



多发性骨髓瘤 CD138 分选磁珠，人(92-01-0186)

[组分]

多发性骨髓瘤 CD138 磁珠，人：与单克隆抗人 CD138 抗体偶联的超纯磁珠（同种型：小鼠 IgG1）。

[规格] 2mL，适用于 40mL 人骨髓或全血。

[保存形式] 多发性骨髓瘤 CD138 磁珠储存在含有稳定剂和 0.05% 叠氮化钠的缓冲液中。

[储存条件] 2 - 8 °C 避光保存，请勿冷冻。有效期见试剂外标签。

[分选原理]

首先，用多发性骨髓瘤 CD138 磁珠对骨髓或全血样本中 CD138+ 细胞进行磁性标记。然后，将细胞悬浮液装入置于分选器磁场的分选柱中。磁性标记的 CD138+ 细胞被保留在柱中，未标记的细胞顺着分选柱流出。将柱从磁场中移出后，磁性保留的 CD138+ 细胞可作为正选细胞部分被洗脱出来。

[背景信息]

多发性骨髓瘤 CD138 磁珠是通过全自动分离器或全血柱试剂盒直接从抗凝的骨髓或全血中阳性选择 CD138+ 细胞而开发的。不需要样品制备，包括密度梯度离心法或红细胞裂解法。CD138 抗原，也被称为 syndecan-11，主要在骨髓中的正常和恶性浆细胞上发现。初始 B 细胞、生发中心 B 细胞、记忆 B 细胞、T 细胞或单核细胞不表达 CD138 抗原。

[试剂和仪器要求]

● 缓冲液： 配制含有 pH 7.2 PBS、0.5% 牛血清白蛋白（BSA）和 2 mM EDTA 的溶液。将缓冲液置于 2-8 °C。使用前对缓冲液进行脱气处理，因为空气气泡可能会堵塞分选柱。

▲ 注:EDTA 可由其他补充剂替代,如抗凝柠檬酸葡萄糖配方-A (ACD-A) 或柠檬酸磷酸葡萄糖 (CPD)。

BSA 可以用其他蛋白质代替,例如人血清白蛋白、人血清或胎牛血清。不建议使用含有 Ca^{2+} 或 Mg^{2+} 的缓冲液或培养基。

● 分选柱和分选器。

● (可选) HEPES 缓冲细胞培养基 (例如 IMDM 或 RPMI 1640) , 补充有 100 U/mL 肝素。

● (可选) 荧光偶联的抗体用于流式分析。

● (可选) PI 或 7-AAD 可以用于流式分析中排除死细胞。

● (可选) 预分离过滤器去除细胞团块。

[步骤]

一、样本准备

▲多发性骨髓瘤磁珠已开发用于直接从抗凝骨髓或全血样本中阳性选择靶细胞, 体积范围为 0.25 mL 至 15 mL。

▲可以使用抗凝剂, 如 EDTA、肝素、柠檬酸葡萄糖配方-A (ACD-A) 或柠檬酸磷酸葡萄糖 (CPD)。

对于后续的分子生物学应用, 使用 EDTA 作为抗凝剂。然而, 替换 EDTA 会降低纯度和/或回收率。

1. 使用抽吸针从髂嵴上部或胸骨收集 2-15 mL 骨髓, 或在含有适当抗凝剂的收集管中收集最多 15 mL 静脉血。

2. 处理骨髓样本时: 将细胞通过预分离过滤器(100 μm), 以去除骨碎片或细胞团块;

3. 处理全血样本时：直接进行磁性标记。

（可选）骨髓样本的洗涤

▲ 为了在磁标记之前进一步去除骨髓样本中的碎片或死细胞，可以对骨髓样本进行洗涤。然而，细胞产量可能会降低。

1. 将骨髓转移至含有等体积细胞培养基或缓冲液的 50 mL 锥形管中。
2. 在不带刹车的吊桶式转子中于 20 °C 下以 445×g 离心 10 分钟。
3. 用细胞培养基或缓冲液重悬细胞沉淀至步骤 1 中使用的原始体积。
4. 继续进行磁性标记。

二、磁珠标记

▲ 下面给出的磁性标记体积适用于 1 mL 抗凝骨髓或全血。当使用较大体积时，相应地放大所有试剂体积和总体积（例如，对于 2 mL，使用所有指定试剂体积和总体积的两倍）。当使用低于 1 mL 的体积（最小体积 0.25 mL）时，请相应地缩小所有试剂和总体积。

▲ 为了获得最佳性能，在磁标记之前获得单细胞悬浮液是很重要的。将细胞通过 30 μm 尼龙网，去除可能堵塞分选柱的细胞团块。使用前用缓冲液湿润过滤器。

1. 每 1 mL 抗凝骨髓或全血中添加 50 μL 多发性骨髓瘤 CD138 磁珠。
2. 充分混合并在室温（+19—25 °C）下孵育 15 分钟。
3. 进行磁分离。

三、细胞分选



1. 将全血分选柱置于相对应的分选器中。
 2. 用适 3mL 缓冲液润洗分选柱。
 3. 将磁性标记的细胞悬液装载到准备好的全血柱上。收集含有未标记细胞的流出液。
- ▲ 注意：全血分选柱的储液槽最多可容纳 7.5 mL。大于 7.5 mL 的样品应等分装入分选柱。
4. 用 2×2mL 缓冲液清洗全血分选柱。收集流出物并与步骤 3 的流出物混合，这是未标记的细胞。
- 注意：柱储液器空后立即添加等份缓冲液来执行清洗步骤。
5. 将全血分选柱从分选器中取出，并将其放在合适的收集管上。
 6. 将 4mL **全血柱洗脱缓冲液**加到全血分选柱中，迅速用塞子推下，得到就是磁性标记的细胞。
 7. 以 300×g 离心细胞 5 分钟并去除上清液。这些细胞已准备好用于下游应用。